

顶空-气相色谱法测定奶粉中硝酸盐的含量

达瓦 杨兴玉 次旦顿珠 索朗德吉*

西藏自治区疾病预防控制中心

DOI:10.32629/ffcr.v3i10.21311

[摘要] 硝酸盐常作为食品添加剂或品质改良剂应用于食品加工中，适量添加可改善产品感官品质，但过量摄入可能对人体健康造成危害，奶粉中硝酸盐含量超标还可能诱发高铁血红蛋白症^[1]，并在一定条件下转化为亚硝酸盐，进一步生成具有潜在致癌风险的亚硝胺类物质^[2-3]。因此，建立快速、准确的奶粉硝酸盐检测方法具有重要意义。本研究采用顶空-气相色谱法测定奶粉中硝酸盐含量，经蛋白沉淀、脱脂、离心取上清后，加入衍生剂使硝酸盐生成挥发性硝酸乙酯，再通过顶空进样和气相色谱分析完成测定^[4-5]。该方法前处理简便、试剂用量少、操作效率高，具有较好的准确性和推广应用价值。

[关键词] 顶空-气相色谱法；奶粉中硝酸盐；测定含量

中图分类号：TS252.7 **文献标识码：**A

Determination of Nitrate Content in Milk Powder by Headspace Gas Chromatography

Da Wa, Xingyu Yang, Tseten Dhondup, Sonam Deji*

Xizang Autonomous Regional Center for Disease Control and Prevention

Abstract: Objective: To establish a rapid and accurate detection method for nitrate residues in milk powder. Methods: Headspace gas chromatography was adopted for the determination of nitrate in milk powder. Samples were pretreated by protein precipitation, degreasing and centrifugation to obtain supernatant, followed by adding derivatizing reagent to generate volatile ethyl nitrate, then analyzed via headspace injection and gas chromatography. Results: Nitrate is widely applied as food additive and quality improver in food processing. Excessive nitrate intake will endanger human health; high nitrate level in milk powder may trigger methemoglobinemia, and nitrate can be transformed into nitrite which further generates carcinogenic nitrosamines under specific conditions. The established method has simple pretreatment, less reagent consumption and high detection efficiency with reliable accuracy. Conclusion: The headspace gas chromatography method is easy to operate and worthy of popularization for nitrate detection in milk powder.

Keywords: headspace gas chromatography; milk powder; nitrate content determination

1 试验部分

1.1 主要仪器与试剂

顶空进样器 (奥普乐 APL 201803-HS-20-126)；气相色谱仪 (美国 Agilent 6890)；配有检测器 (ECD)；顶空瓶：容量为 20ml，与顶空进样器配套；分析天平；离心机；三乙基氧四氟硼酸盐 368-39-8，99% (成都 化夏试剂)；水中硝酸根离子成分分析标准物质 1000mg/L (GBW(E)082049)；样品：全脂高钙奶粉 (649BL 1905，产品标准代号 GB19644)、雀巢全家营养奶粉 (907711422X)、雀巢脱脂高钙奶粉 (905711424D)。

1.2 仪器条件

顶空进样器的顶空盘的温度：25℃；顶空进样器的进样针的温度：25℃；顶空进样器的平衡时间 15min；循环时间：15min；加压时间：40 秒；进样时间：3 秒；吹气时间：

60 秒；顶空进样器的循环时间 15min；传输线温度：120℃；阀的温度：80℃；

气相色谱的色谱条件：石英毛细管色谱柱 HP-5 30m (长) × 0.32mm (内径) × 0.25μm (膜厚度)；所选载气：氮气 (N₂)；分流比：5:1；总流量：11.5mL/min；气相色谱进样口的温度：120℃；色谱柱的柱温：37℃，保持 15min；检测器的温度：250℃。

1.3 标准曲线制备

准确争取硝酸根离子标准应用液 (1000mg/L)，配置成 0、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0μg/mL 的硝酸根标准溶液，充分混匀，然后分别从上述稀释的标准溶液中移取 4mL 加到顶空瓶中，分别加 200μL 的三乙基氧四氟硼酸盐衍生剂，立即盖上顶空盖子，进行密封，轻轻摇匀^[6]，在电子捕获检测器上测定已保留时间定性，峰高定量，在

0--10 μ g/mL 的浓度范围内，硝酸根浓度响应峰面积的线性回归方程为 $y = 689.54x + 7180.4$ ， $R^2 = 0.999$ 。

1.4 样品预处理与测定

分别准确称取 0.5g 的奶粉样品与 100ml 锥形瓶中，加入 70℃ 左右的超纯水约 100mL，搅拌混匀，过滤；离心取上清液，待样品离心后大致没有沉淀物，将处理好的上清液用滤纸过滤，弃去刚开始的滤液 10mL 左右，剩下的滤液放入容量瓶中备用，同时做空白试样^[7-8]。由于样品中脂肪较多，隔夜放一宿，第二天将样品放入离心管中再以 4000rpm 的转速离心 15 分钟，取上清液于容量瓶中，取 4mL 体积的上清液于顶空瓶（20mL 的顶空瓶）中，加入 300 μ L 的三乙基氧四氟硼酸盐溶液处理样品，立马盖上盖子，密封，轻轻摇匀，使硝酸会跟三乙基氧四氟硼酸盐发生反应，将硝酸根转换成具有挥发作用的 EtONO₂。待测。

2 结果

2.1 衍生剂三乙基氧四氟硼酸加入选择 取 10 μ g/mL 硝酸根标准应用溶液 4 mL，分别加入 0、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 mL 三乙基氧四氟硼酸盐衍生剂；另取奶粉样品平行 7 份，各取 4 mL，分别加入 0、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0 mL 衍生剂，在相同仪器条件下测定。结果显示，标准溶液中衍生剂加入量为 0.2 mL 时反应基本达到饱和，故标准体系选择 0.2 mL。由于奶粉样品中含有蛋白质、脂肪、金属离子及部分非金属离子，可能消耗部分衍生剂，需适当增加加入量。实验结果表明，衍生剂加入量为 0.25~0.3 mL 时检测偏差较小，因此本试验最终选择 0.3 mL 作为奶粉样品中衍生剂加入量。

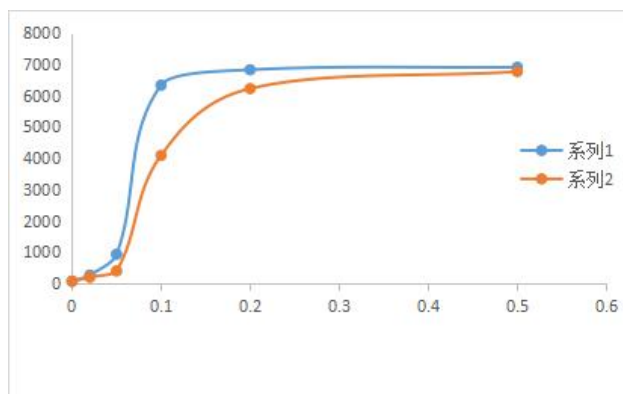


图1 衍生剂三乙基氧四氟硼酸盐加入的量(系列1.同浓度样品不同浓度的衍生剂。系列2.同浓度衍生剂下的不同浓度的样品。)

2.2 色谱柱的选择

根据相关文献及样品极性特点，初步选择石英毛细管色谱柱 HP-5 进行分离。为排除目标峰与杂质峰分离不完全的可能，进一步比较了极性较强的 DB-WAX 色谱柱。结果显示，DB-WAX 柱保留时间稳定性较差，且水分及样品中其他极性组分易对目标物检测造成干扰。相比之下，HP-5 色谱柱（30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μ m）能够较好分离目标物与干扰物，峰形及分离效果较理想。因此，本实验选择 HP-5 色谱柱（30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μ m）作为分析色谱柱。

2.3 方法的精密度和准确度 在测定线性范围内，对全脂高钙奶粉进行日间、日内测定，结果见表 1。

表1 奶粉样品的精密度测定，

全脂高钙奶粉	测得的样品浓度					精密 度%
日间	3.65	3.568	3.982	3.263	--	2.42
日间	0.309	0.254	0.349	0.359	--	2.14
日内	3.982	3.65	3.263	3.61	3.568	1.81
日内	0.254	0.167	0.349	0.359	0.309	2.17

以硝酸盐本地含量进行测定，分别添加 0、5mL 的 1 μ g/mL 标准溶液、5mL 的 10 μ g/mL 标准溶液，进行加标回收试验，计算加标回收率，结果见表 2。

表2 全脂高钙奶粉样品不同加标量的加标回收率

样品	样品本底 值 μ g/mL	加标浓度 度 μ g/mL	混合物测定 值 μ g/mL	回收 (%)
B1	0	0.5	0.349、 0.359、0.167	69.8、71.8、 33.4
B2	0	0.5	1.023、0.801、 1.039	204.6、 160.2、207.8
B3	0.4695	0.5	0.982、1.008、 0.899	102.5、 107.7、85.9
C1	0	5	2.936、 3.263、3.568	58.72、 65.26、71.36
C2	0	5	4.06、4.235、 4.153	81.2、84.7、 83.06
C3	0.4695	5	4.981、4.14、 4.331	90.23、 73.41、77.23

3 分析结果与实际应用

检测结果显示，全脂高钙奶粉和雀巢全家营养奶粉中硝酸盐含量均低于方法检出限，雀巢脱脂高钙奶粉中硝酸盐含量为 0.939 mg/kg，低于相关卫生限量要求，说明所测样品中硝酸盐含量处于较低水平。实际应用结果表明，顶空-气相色谱法用于奶粉中硝酸盐检测具有前处理简便、分析速度快、重现性较好、检出限较低、试剂消耗量少等优点，可满足奶粉样品中硝酸盐含量的日常检测需求。

[参考文献]

- [1]印杰,郑国建,叶寅颖.离子色谱法测定乳制品中的亚硝酸盐和硝酸盐[J].乳业科学与技术,2024,47(1):14-18.
- [2]张蓓,何浩,吴海智,等.顶空—气相色谱法测定婴幼儿配方食品和辅助食品中亚硝酸盐[J].中国乳品工业,2022,50(2):54-58.
- [3]吴滋灵,姚晓庆,沈应涛,等.液态乳中 8 种阴离子残留量的同时检测[J].食品与机械,2023,39(10):56-61,68.

[4]王小芳,樊继彩,任韧.高效液相色谱—荧光检测法测定婴幼儿奶粉中的亚硝酸盐[J].中国卫生检验杂志,2021,31(7):808–810,816.

[5]李华丽,蔡楚勇.离子色谱法测定奶粉中亚硝酸盐含量的优化[J].广东化工,2021,48(13):195–196.

[6]李卉,李莉.食品中亚硝酸盐检测方法的研究进展[J].食品工业科技,2022,43(23):429–435.

[7]侯靖,许晴,毛燕妮,等.顶空/气相色谱—质谱法测定婴

幼儿食品中54种挥发性有机污染物[J].分析测试学报,2023,42(1):75–81.

[8]陈林林,吴松遥,郝熙,等.酚酸基纳米金修饰电极检测食品中的亚硝酸盐和亚硫酸盐[J].食品工业科技,2025,46(1):274–282.

作者简介：

达瓦（1994.07–），男，藏族，西藏人，本科，中级职称，研究方向为食品。